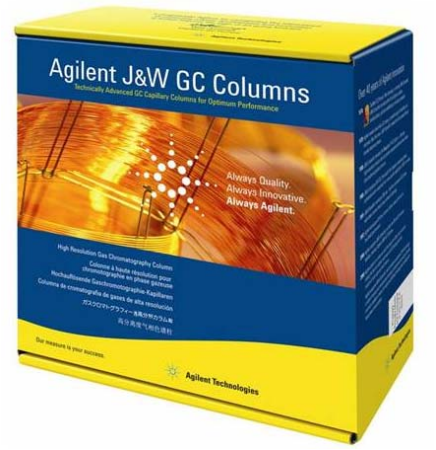
脂肪酸メチルエステル(FAME)のリテンションタイムロッキング(RTL)メソッドの作成と高速分析



＜要旨＞　脂肪酸メチルエステル(FAME)の分析は、対象成分の多さとその cis, trans 体の存在により、高度な分離が求められる分析です。さらにその多成分を分析毎に同定を行うのは多大な時間を要する作業です。今回の分析ではリテンションタイムロッキング(RTL)を使用し、ピーク同定テーブルを作成することによりピーク同定の簡便化を達成しました。さらに、従来のメソッドでは測定時間そのものの長さが問題の一つでしたが、測定時間を短縮し品質管理分析等のルーチン分析に適用可能な高速メソッドの検討を行いました。

Key Words: 脂肪酸メチルエステル(FAME)、リテンションタイムロッキング(RTL)、HP-88 カラム

＊＊＊＊＊＊＊

1. はじめに

近年、北・南米やアジア等においては食品油脂中に含まれるトランス脂肪酸の含有量表示の義務化が進んでいます。日本においては昨年、消費者庁より指針が開示され、近い将来、トランス脂肪酸の表示が義務化されると考えられます。トランス脂肪酸の分析はすでに AOAC, AOCS といった機関の公定法が存在し、前処理、分析条件をそのまま使用することが可能です。しかし、ピークの同定、レスポンスファクターの算出は各分析機関で行う必要があり、これから分析を始める場合にはある程度の検討時間が必要となります。本アプリケーションノートでは、この時間をできる限り短くできるようメッソドの提供を行います。

また、既存のメソッドは高分離を求めるために 1 時間以上という長い分析時間が必要となります。ルーチン分析として日常の分析メソッドに組み込むにはこの分析時間が問題となります。そこで同時に高速分析の検討も行い、30 分以内の分析メソッドを作成しました。

2. 測定条件

高分離分析条件

装置 : Agilent 7890GC
カラム: HP-88 (100m, 0.25mm, 0.2μm)
注入量 : 1μl
注入モード : スプリット 20:1
注入口温度 : 250℃
オーブン : 100℃(4min)-3℃/min-240℃(15min)
キャリアガス: He
カラム流量 : 約 1ml/min C18:0 を 41.000min に RTL
分析時間: 65.7min
FID: 250℃(メークアップガス N2)

高速分析条件

カラム: HP-88 (60m, 0.25mm, 0.2μm)
オーブン : 70℃(1min)-9℃/min-240℃(3min)
キャリアガス: H2
カラム流量 : 約 1 ml/min C18:0 を 17.600 に RTL
分析時間: 25min
※その他の条件は同一

カラムは CP-Sil88 と同等の選択性を持ちさらに高温に耐えうるよう設計された HP-88 カラムを用いました。

3. サンプル

サンプルの前処理は市販のショートニングおよびチーズを 10-20mg 量りとり、脂肪酸メチルエステル化キット（ナカライテスク）を用いて行いました。このキットでは誘導体化のステップをオートサンプラにより自動化することが可能です。詳しくは 7693A 前処理機能を用いたトランス脂肪酸の自動分析(GCMS-201011TW-002)を参照下さい。

4. 分析結果

高分離分析条件および、高速分析条件でサンプルを分析したクロマトグラムを Fig.1 に示します。メソッドには 51 種類の脂肪酸メチルエステルの保持時間および、レスポンスファクター(AOAC 996.06 に準拠)が含まれてい

ます。このうち、高分離条件では 2 種類が、高速分析条件では 5 種類の保持時間が極めて近く、分離が困難なため、レスポンスファクターおよび脂肪酸量の算出には共溶出する成分の平均値を用いました。
各メソッドで同じサンプルを分析した結果、脂肪酸総量に対する、トランス脂肪酸の割合は下記の通り算出されました。
高分離分析条件
・ショートニング: 16.9%、チーズ: 4.8%
高速分析条件
・ショートニング: 15.1%、チーズ: 4.3%
各メソッドでの算出値の違いは 1.8%、0.5%と比較的小さく、両者の間で近い値が得られました。この結果より、より多検体の試料を分析するラボや、同様のサンプルを常にモニターする、品質管理分野においては高速分析条件が十分に適用可能と考えられます。また高速分析条件においてトランス脂肪酸の割合が少ないのは、cis 体のピークが大きい場合に trans 体のピークがより干渉を受けやすくなる事が原因と考えられます。

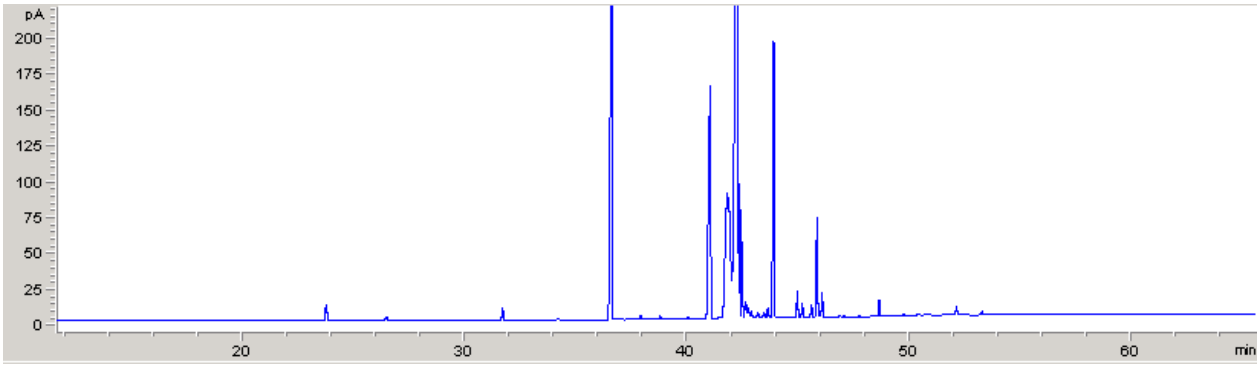
このため、より高分離を求める研究開発分野や、初めてのサンプルを分析する際には高分離条件が適していると考えられます。

5. まとめ

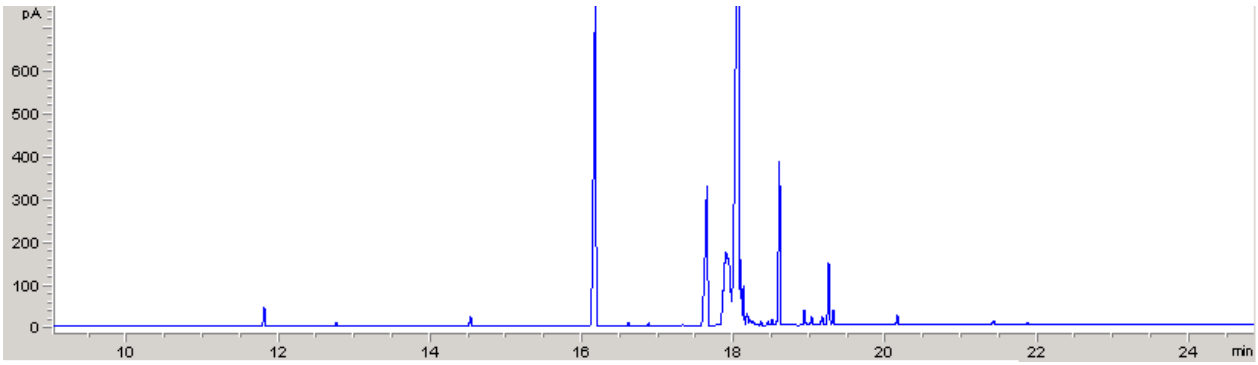
高分離分析条条件は既存の AOAC メソッドといった分析法に準拠し、十分な分離が得られます。一方で高速メソッドは、その半分以下の分析時間であるため、ルーチン分析に適したメソッドです。

各メソッドは RTL 情報を含んでいるため、初めて分析を始めるラボにおいても非常に短時間で FAME 分析を開始することが可能です。また、目的成分の追加、削除を行っていくことで、簡単にお客様独自のデータベースを作成することができます。

さらに 7890GC に 7693ALS を取り付ける、もしくは 7669A サンプル前処理ワークベンチを使用することで、前処理、誘導体化プロセスの自動化を行うことが可能です。



クロマトグラム 1. 高分離分析条件でのショートニングのクロマトグラム



クロマトグラム 2. 高速分析条件でのショートニングのクロマトグラム

【GC-201103AZ-001】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp

Agilent Technologies